

TAP CHI SINH HỌC 2020, 42(1): 11–19

DOI: 10.15625/0866-7160/v42n1.13906

**GENETIC CHARACTERISTICS OF *Panax vietnamensis* Ha & Grushv.  
POPULATIONS BASED ON SSR****Nguyen Thi Hong Mai<sup>1</sup>, Le Thanh Son<sup>2</sup>, Nguyen Thi Phuong Trang<sup>1,\*</sup>**<sup>1</sup>Institute of Ecology and Biological Resources, VAST, Vietnam<sup>2</sup>National Institute of Medicinal Materials

Received 29 June 2019, accepted 10 February 2020

**ABSTRACT**

The results of genetic analysis of two *Panax vietnamensis* populations, collected in Tac-ngo ginseng garden, Tra Linh commune, Quang Nam Province and Mang ri ginseng garden, Kon Tum Province, showed that the population of ngoc linh ginseng in Quang Nam has higher allelic frequency compared to the Ngoc Linh ginseng population in Kon Tum ( $AR = 2.27 > AR = 2.05$ ). The population of ngoc linh ginseng in Quang Nam has the expected heterozygous frequency ( $H_e$ ) higher than the expected heterozygous frequency of the ginseng population in Kon Tum ( $0.42 > 0.4$ ). The observed heterozygous frequency ( $H_o$ ) of the ngoc linh population in Quang Nam was also higher than the observed heterozygous frequency compared to the ngoc linh ginseng population in Kon Tum ( $0.49 > 0.43$ ). These results demonstrated that both populations of ngoc linh ginseng in Quang Nam and Kon Tum are maintaining high heterozygous frequencies; self-pollination has not affected to the genetic structure of these both populations yet. However, the population of ngoc linh ginseng in Quang Nam showed a higher level of diversity and heterozygous frequency than the ngoc linh ginseng population in Kon Tum.

**Keywords:** *Panax vietnamensis*, conservation, ginseng, microsatellite.

*Citation:* Nguyen Thi Hong Mai, Le Thanh Son, Nguyen Thi Phuong Trang, 2020. Genetic characteristics of *Panax vietnamensis* Ha & Grushv. populations based on SSR. *Tap chi Sinh hoc (Journal of Biology)*, 42(1): 11–19. <https://doi.org/10.15625/0866-7160/v42n1.13906>.

\*Corresponding author email: [nptrang@gmail.com](mailto:nptrang@gmail.com)

©2020 Vietnam Academy of Science and Technology (VAST)

## ĐẶC ĐIỂM DI TRUYỀN QUẦN THỂ SÂM NGỌC LINH (*Panax vietnamensis* Ha & Grushv.) BẰNG PHƯƠNG PHÁP SSR

Nguyễn Thị Hồng Mai<sup>1</sup>, Lê Thanh Sơn<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Phương Trang<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Dược liệu Trung ương

Ngày nhận bài 29-6-2019, ngày chấp nhận 10-2-2020

### TÓM TẮT

Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha & Grushv.) là loài đặc hữu của miền trung Việt Nam, đã được xác định là một trong bốn cây sâm quý nhất trên thế giới. Do khai thác quá mức và mất nơi sống, loài này đang bị đe dọa. Để làm cơ sở khoa học trong bảo tồn và phát triển loài sâm quý hiếm này của Việt Nam, chúng tôi đã tiến hành phân tích di truyền từ 60 mẫu của hai quần thể sâm Ngọc Linh tại vườn sâm Tắc-ngo, xã Trà Linh, tỉnh Quảng Nam và vườn sâm Măng ri, tỉnh Kon Tum bằng phương pháp SSR. Kết quả thu được cho thấy quần thể sâm ở Quảng Nam có tần số alen cao hơn so với quần thể sâm ở Kon Tum ( $A = 2,27 > A = 2,05$ ). Quần thể sâm ở Quảng Nam có tần số dị hợp tử mong đợi (He) cao hơn tần số dị hợp tử mong đợi của quần thể sâm ở Kon Tum ( $0,42 > 0,4$ ). Tần số alen dị hợp tử quan sát được (Ho) của quần thể Quảng Nam cũng cao hơn tần số dị hợp tử quan sát so với quần thể Kon Tum ( $0,49 > 0,43$ ). Kết quả cho thấy cả 2 quần thể sâm ở Quảng Nam và Kon Tum đều đang duy trì được tần số dị hợp tử tương đối cao, hiện tượng thụ phấn cận loài chưa ảnh hưởng đến cấu trúc di truyền quần thể của cả 2 quần thể này, tuy nhiên quần thể Quảng Nam thể hiện mức độ đa dạng và tần số dị hợp tử cao hơn so với quần thể Kon Tum.

Từ khóa: Đặc điểm di truyền, bảo tồn loài, sâm Ngọc Linh.

\*Địa chỉ liên hệ email: nptrang@gmail.com

### MỞ ĐẦU

Chi sâm, *Panax* là một chi nhỏ thuộc họ Ngũ gia bì Araliaceae. Trên thế giới, chi *Panax* có 16–18 loài, phân bố từ bắc bán cầu kéo dài từ vùng rừng núi giáp bờ biển phía Đông của Bắc Mỹ, trung tâm phân bố của *Panax* có thể từ vùng Tây Nam của Trung Quốc đến phía Bắc của Việt Nam. Giới hạn cuối cùng (14°15' vĩ độ Bắc) về phía Nam của chi *Panax* là loài *Panax vietnamensis* ở miền Trung của Việt Nam. Chính vì vậy, sâm Ngọc Linh được coi là loài đặc hữu hẹp của miền Trung Việt Nam (Ha, 1985; Lê Thanh Sơn, 2006). Sâm Ngọc Linh cũng đã được xác định có giá trị nguồn gen, là một cây thuốc quý về giá trị sử dụng do có chứa nhiều thành phần

saponin, hàm lượng acid amin, các chất khoáng vi lượng hơn hẳn những loài sâm khác (Nguyễn Tiến Bản, 2003). Việc khai thác quá mức đã dẫn đến không hoặc rất hiếm gặp loài ngoài tự nhiên hiện nay, loài này chỉ còn tồn tại ở một số vườn trồng tại các khu bảo tồn của tỉnh Quảng Nam và Kon Tum. Sâm Ngọc Linh được xếp vào nhóm nguy cấp (EN) trong sách đỏ Việt Nam (2007) và nhóm IIa của nghị định 32-CP. Ngành Y tế đã chọn sâm Ngọc Linh làm cây thuốc xây dựng sản phẩm quốc gia về dược liệu.

Ở Việt Nam, cho đến nay, có khá nhiều công trình khoa học nghiên cứu về sâm Ngọc Linh. Các nghiên cứu cơ bản tập trung vào điều tra, phân loại, xác định vùng phân bố,

nghiên cứu về thành phần hoá học, thử nghiệm hoạt tính bảo vệ gan, giải mã hệ gen lục lạp, hầu như rất ít các công trình nghiên cứu về di truyền quần thể sâm Ngọc Linh. Việc đánh giá ảnh hưởng của sự phân cắt nơi sống, điều tra tính đa dạng di truyền và sinh thái ở cả hai mức độ quần thể và loài trong tự nhiên có vai trò quan trọng góp phần đưa ra chiến lược và các giải pháp bảo tồn loài một cách hữu hiệu. Nhiều nghiên cứu đã đề cập đến mức độ suy giảm tính đa dạng di truyền trong và giữa các quần thể thực vật liên quan đến nơi sống bị chia cắt (Keller, 2002; Kim, 2007; Lahaye, 2008). Các tác giả này đã chỉ ra rằng suy giảm tính đa dạng di truyền xảy ra liên quan đến số lượng cá thể thấp trong quần thể tại thời gian nơi sống bị chia cắt. Hệ số thụ phấn cao giữa các cá thể có quan hệ cận loài cũng là yếu tố làm suy giảm tính đa dạng di truyền.

Trần Văn Tiến, Lê Ngọc Triệu và nnk. (2016) đã nghiên cứu về di truyền quần thể loài tam thất hoang (*Panax stipuleanatus* Tsai) và sâm lai châu (*Panax vietnamensis* var. *fuscidiscus*) bằng chỉ thị ISSR (Le Ngọc Triệu, 2016a, b).

Nhóm nghiên cứu của viện thảo dược Việnn Đông (Nga) kết hợp với các cán bộ phòng Hệ thống học phân tử & Di truyền bảo tồn, Viện Sinh thái & Tài nguyên sinh vật đã có nghiên cứu về đa dạng di truyền quần thể loài sâm Nga (*Panax ginseng*) và sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis*) bằng chỉ ISSR và AFLP. Có thể nói đây là công trình nghiên cứu đầu tiên về di truyền quần thể loài sâm Việt Nam (Galina, 2010; Elena, 2018).

Kỹ thuật SSR (microsatellite) được đánh giá là kỹ thuật hữu hiệu nhất trong việc nghiên cứu đa dạng di truyền ở cấp độ loài và quần thể do các chỉ thị SSR có tính đa hình cao và đặc hiệu cho từng loài nghiên cứu. SSR là những trình tự nucleotide đặc biệt lặp lại nhiều lần từ một phân đoạn oligonucleotide ngắn, đơn giản. Ưu điểm của SSR là chỉ thị đồng trội, có tính đặc hiệu và khả năng phát hiện đa hình rất cao, giúp tránh được các nhầm lẫn trong phân tích genome. SSR thường được dùng trong các nghiên cứu về đa dạng di truyền ở cấp độ loài và quần thể, các nghiên cứu về trao

đổi di truyền, cấu trúc di truyền và mối quan hệ sinh sản trong các quần thể (Kim, 2007).

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng kỹ thuật SSR để nghiên cứu đặc điểm di truyền của 2 quần thể loài sâm Ngọc Linh thu ở Quảng Nam và Kon Tum.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Tổng số 60 mẫu lá sâm Ngọc Linh thu ngẫu nhiên từ 25 cây sâm tại vườn sâm gốc Tắc-ngo, xã Trà Linh, huyện Nam Trà My, tỉnh Quảng Nam, tọa độ 15° 00'607'' N108°01'660'' E, độ cao 1567m và 35 mẫu sâm thu tại xã Măng Ri, huyện Tu Mơ Rông, tỉnh Kon Tum, tọa độ 14° 59'11.12''N107°57'10.87''E, độ cao 1880m (hình 1).

### Tách chiết DNA tổng số

Các mẫu lá sâm Ngọc Linh từ hai quần thể Quảng Nam và Kon Tum được bảo quản trong silicagel cho đến khi thực hiện các nghiên cứu phân tử.

Mẫu lá sau đó được nghiền trong nitrogen lỏng (-)196°C thành dạng bột mịn, lấy 100mg bột để tách DNA, sử dụng kit tách Dneasy plant mini kit (Qiagen, Đức).

### Lựa chọn môi SSR

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã sử dụng 11 cặp môi SSR được thiết kế đặc hiệu cho loài sâm Hàn Quốc (bảng 1).

Kim et al. (2007) đã thực hiện nghiên cứu và phát hiện được 642 vùng lặp microsatellite trên toàn bộ vùng gen lục lạp của loài nhân sâm Hàn Quốc (*Panax ginseng*), đã chọn được 251 SSR vùng khác nhau và đã thiết kế được 90 cặp môi SSR để nhân những vùng microsatellite này. Kết quả khảo sát sau đó đã chọn ra 11 cặp môi SSR cho kết quả đa hình và đặc hiệu với loài nhân sâm Hàn Quốc (bảng 2).

Phản ứng nhân dòng các đoạn microsatellite có kích thước trong khoảng 100–300 bp được thực hiện với cặp môi đánh dấu huỳnh quang (Fluorescence chemicals) một chiều xuôi. Chu trình phản ứng được thực hiện ở 95°C trong 30'', dải nhiệt độ từ 54°C–59°C trong 30'', 72°C trong 40''; 72°C

trong 10' với tổng số 35 chu trình. Điện di sản phẩm PCR trên máy điện di mao quản Qiaexcel, đọc kết quả bằng phần mềm Gene Marker.



A. Hình ảnh cây sâm Ngọc Linh tại vườn sâm Tắc-ngo, Quảng Nam



B. Hình ảnh cây sâm ngọc linh tại vườn sâm Măng ri, Kon Tum

Hình 1. Hình ảnh cây sâm Ngọc Linh tại vườn sâm Tắc-ngo (A) và vườn sâm Măng ri (B)

Bảng 1. Trình tự 11 cặp mồi SSR được kiểm tra để phân tích đa dạng di truyền (các mồi bôi đậm phù hợp, dùng cho phân tích)

STT	Mồi	Trình tự mồi (5' – 3')	Nhiệt độ bắt cặp mồi
1	PG-22	F: CTGTCTATGCAAGTTGCGGCTG R: ATCAAGTTGGAAATCAGGTGGG	58
2	<b>PG-29</b>	<b>F: AATCAGAAACAAAGAAAGCTAAAAC</b> <b>R: CTCTCTCATCTCTCTCTCTTCC</b>	60
3	PG-281	F: GTAGTAGTAGTAAAACCTTGCTAACG R: ATTTACAACCTCTCTTCTTCCTCTAC	60
4	PG-287	F: GTGGGACTGGTATACAATAAGA R: GTGTTCTTAGTTGCCCATTTG	60
5	<b>PG-668</b>	<b>F: CTGGCATCGAAGTTTCTCCATTC</b> <b>R: TGCATAGCACAGAGAGGAGG</b>	60
6	PG-770	F: CCTCTTTGGGGCAGGGATATTTG R: CCAGCAAACCCAAACCCTCCTC	60
7	PG-946	F: GAATCGAAGTGTTAAGTTGAT R: CTAAATCGATGATAACACC	56
8	PG-1319	F: GCATGAACGGATACACCTTGAGG R: GGTATGCACCAGAAACGGACTGG	58
9	<b>PG-1419</b>	<b>F: ACTCAAAATTCTACAGCTTCCTC</b> <b>R: GATACCCAGGCAGTCTGATGAC</b>	56
10	<b>PG-1481</b>	<b>F: GGAGGTGATTGATGTTAGTGGGAATCC</b> <b>R: GGCTCTCCTATACTCACTATTTCCC</b>	58
11	PG-1663	F: CTACACGCTTTTTTCATAGCTTACA R: TGTCTGCATAAAAGAGTTCGAGGC	60

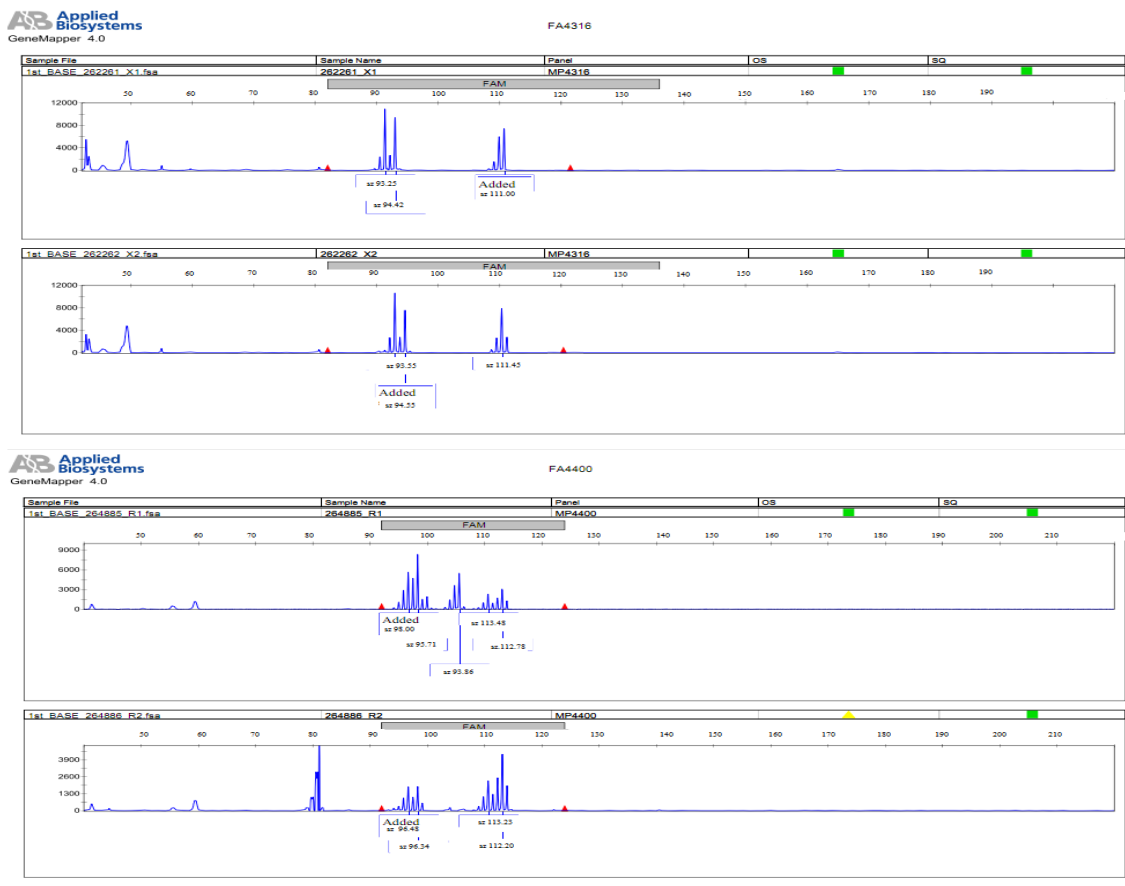
## Phân tích số liệu SSR

Dữ liệu di truyền được ghi nhận trên cơ sở sự có mặt hoặc vắng mặt của các đỉnh (peak) DNA thu được hoặc băng vạch DNA trên bản điện di. Các thông số xác định đa dạng di truyền trong quần thể bao gồm tần số alen cho một lô cút (A), số alen có ý nghĩa ( $n_e$ ), hệ số gen dị hợp tử quan sát ( $H_o$ ), hệ số gen dị hợp tử mong đợi ( $H_e$ ), tỉ lệ phần trăm lô cút đa hình, tần số gen dị hợp tử quan sát và lý thuyết dưới điều kiện cân bằng Hardy-Weinberg và hệ số Fixation index ( $F_{is}$  – hệ số thụ phấn cận oán) được tính toán bằng phần mềm GenAlex (Rox, 2012). Sự sai khác di truyền giữa các quần thể được đánh giá theo tần số alen sử dụng chỉ số khoảng cách di truyền và hệ số tương đồng di truyền của Nei's (1972).

## KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### Kết quả lựa chọn mỗi SSR

Kết quả thử nghiệm 11 mỗi SSR thiết kế đặc hiệu cho sâm Hàn Quốc trên mẫu sâm Ngọc Linh của Việt Nam cho thấy, trong số 11 mỗi thử nghiệm, chỉ có 4 mỗi gồm PG-29, PG-668, PG-1419 và PG-1481 cho kết quả đa hình (hình 2), các mỗi còn lại hoặc không xuất hiện băng vạch, hoặc xuất hiện băng nhiều, không đặc hiệu. Từ kết quả này, chúng tôi lựa chọn 4 cặp mỗi PG-29, PG-668, PG-1419 và PG-1481 để phân tích tính đa hình di truyền cho 60 mẫu sâm thu được từ 2 quần thể sâm Ngọc Linh của Việt Nam tại Quảng Nam và Kon Tum.



Hình 2. Một số hình ảnh alen ghi nhận khi phân tích SSR của 4 mỗi PG-29, PG-668, PG -1419 và PG-1481

### Kết quả phân tích SSR - đặc điểm di truyền quần thể sâm Ngọc Linh

Kết quả phân tích 60 mẫu sâm Ngọc Linh thu từ 2 quần thể sâm tại Quảng Nam và Kon Tum cho thấy 25 mẫu sâm từ quần thể Quảng Nam phân tích trên 4 cặp môi SSR đã thu được tổng số 525 vạch (peaks) chia đều cho 9 alen gồm alen 89, 91, 95, 97, 101, 103, 105, 111 và 119. Cụ thể, mỗi PG-29 cho 8 alen với kích thước lần lượt là 91, 97, 101, 103, 105, 111, 115 và 119 bp., trong đó alen 119 xuất hiện ở 17/25 mẫu của quần thể Quảng Nam nhưng chỉ xuất hiện ở 5/35 mẫu thuộc quần thể Kon Tum. Mỗi PG-668 cho tổng số 5 alen với kích thước các băng lần lượt là 89, 95, 105, 107 và 111 bp, trong đó alen 89 xuất hiện ở 12 mẫu thuộc quần thể Quảng Nam nhưng chỉ tìm thấy ở 3 mẫu thuộc quần thể Kon Tum. Các alen còn lại chia tương đối đều cho cả 2 quần thể.

Mỗi PG-1419 cho tổng số 6 alen với các kích thước là 95, 97, 103, 105, 107 và 111 bp. Mỗi PG-1481 cho 2 alen với kích thước là 101 bp và 105 bp, tuy nhiên alen 101 bp xuất hiện với tần suất áp đảo (85%) trong khi alen 105 bp chỉ xuất hiện ở 9 mẫu trên tổng số 25 mẫu của quần thể sâm tại Quảng Nam.

Như vậy, tần số phân bố của các alen thu được ở 4 locus (PG-29; PG-688; PG-1419; PG-1481) là không đồng đều. Trong đó locus PG-29 có tính đa hình cao nhất và locus PG-1481 có tính đa hình thấp nhất thể hiện ở 2 vạch (101 bp và 105 bp) (bảng 2). Tuy nhiên kết quả cho thấy cả 4 locus SSR sử dụng đều là đa hình với quần thể sâm ở Quảng Nam. Như vậy, bước đầu có thể kết luận quần thể sâm ở Quảng Nam đang duy trì mức độ đa dạng di truyền khá tốt, có giá trị bảo tồn cao.

Đối với quần thể Kon Tum, 35 mẫu sâm thu được đã cho tổng số 665 băng (peaks). Trong 4 môi là PG-29; PG-688; PG-1419; PG-1481, số alen (A) nhận được lần lượt là 8 alen; 5 alen; 6 alen và 1 alen. Mỗi PG-29 cho nhiều alen nhất (8 alen), tuy nhiên alen 119 chỉ xuất hiện ở 3/35 mẫu nghiên cứu. Mỗi PG-1481 cho kết quả đơn hình với một vạch duy

nhất là alen 101, không tìm thấy alen 105 ở các mẫu của quần thể này. Tần số alen (Allele frequency) xuất hiện ở nhiều nhất là ở locus PG-29 là 0,0119; 0,0357; 0,6786; 0,0476; 0,0357; 0,1190; 0,0238; 0,0476 và thấp nhất ở locus PG-1481 là 1,000. Mỗi PG-668 và PG-1419 có kích thước băng dao động trong khoảng 89 bp đến 111 bp, tần số alen dao động từ 0,0114 tới 0,6705. Ở locus PG-668, quan sát được mức độ đồng hợp tử khá cao nhưng chưa hoàn toàn lẫn át các tổ hợp gen dị hợp tử. Số lượng alen quan sát được ở locus PG-668 cũng thấp hơn so với 3 locus PG-29; PG-1419 và PG-1481. Điều này có thể sự cách ly và phiêu bạt di truyền phần nào đã làm giảm tỉ lệ các tổ hợp gen dị hợp. Các kết quả thu được cho thấy: 3/4 locus nghiên cứu cho kết quả đa hình với 35 mẫu của quần thể Kon Tum, tuy nhiên tần số phân bố của các alen không đồng đều, số lượng alen có tần số xuất hiện có ý nghĩa chỉ ở mức trung bình thấp. Đặc biệt, chỉ tìm thấy alen 105 ở 9/25 mẫu thuộc quần thể Quảng Nam mà không thấy xuất hiện ở các mẫu của quần thể Kon Tum. Đây có thể là kết quả của quá trình cách ly và chọn lọc không đều đã làm giảm tần số xuất hiện của một số alen hiếm hay không có ưu thế trong tiến hóa.

Chỉ số số alen có ý nghĩa ( $n_e$ ) của bốn locus PG-29; PG-688; PG-1419; PG-1481 lần lượt là 2,073; 1,944; 2,821; 1,000, như vậy số alen có ý nghĩa ( $n_e$ ) dao động từ 1,0 đến 2,821 (trung bình là 1,2,27 ở quần thể Quảng Nam và 2,05 ở quần thể Kon Tum), trong đó một nửa là các alen hiếm với tỷ lệ thấp. Tiếp theo là tần số dị hợp tử quan sát ( $H_o$ ) trung bình mỗi locus là 0,466 (trong đó ở quần thể Quảng Nam là 0,49 và ở quần thể Kon Tum là 0,43) (dao động từ 0 đến 0,884 tùy theo từng locus) cao nhất là cao nhất ở locus PG-1419 là 0,645. Ở 4 locus PG-29; PG-688; PG-1419; PG-1481 tần số dị hợp tử quan sát ( $H_o$ ) có trung bình mỗi locus đa hình là 0,621. Tần số dị hợp tử mong đợi ( $H_e$ ) của bốn locus PG-29; PG-688; PG-1419; PG-1481 cao nhất ở locus PG-1419 là 0,645 và thấp nhất ở locus PG-1481 là 0,000, tần số dị hợp trung bình của mỗi locus là 0,412. Như vậy trung bình tần số dị

hợp tử mong đợi ( $H_e$ ) mỗi locus thấp hơn tần số dị hợp tử quan sát ( $H_o$ ) mỗi locus ( $H_e = 0,412 < H_o = 0,466$ ). Điều đó chứng tỏ

hai quần thể sâm ở Quảng Nam và Kon Tum đều đang duy trì được tần số dị hợp tử tương đối khả quan.

**Bảng 2.** Đặc điểm di truyền loài sâm Ngọc Linh dựa trên phân tích 4 chỉ thị SSR

Locus	A	$n_e$	Alleles (bp)	Allele frequency	$H_o$	$H_e$	Fis
PG - 29	8	2,073	91	0,0119	0,548	0,518	
			97	0,0357			
			101	0,6786			
			103	0,0476			
			105	0,0357			
			111	0,1190			
			115	0,0238			
			119	0,0476			
PG - 668	5	1,944	89	0,0341	0,432	0,485	
			95	0,6705			
			103	0,2500			
			107	0,0114			
			111	0,0341			
PG - 1419	6	2,821	95	0,2442	0,884	0,645	
			97	0,0116			
			103	0,5233			
			105	0,1279			
			107	0,0349			
			111	0,0581			
PG - 1481	2	1,00	101	0,85	0,000	0,000	
			105	0,15			
Tổng số	21				0,621		
QT Quảng Nam	21	2,27			0,49	0,42	-0,12
QT Kon Tum	20	2,05			0,43	0,40	-0,09
Trung bình		2,16			0,46	0,41	-0,105

Ghi chú: A: Số alen;  $n_e$ : Số alen hiệu quả;  $H_o$ : hệ số dị hợp tử;  $H_e$ : Hệ số dị hợp tử mong đợi; Fis là giá trị thụ phấn cận loài.

Ở mức độ quần thể, quần thể Quảng Nam cho thấy tần số alen cao hơn so với quần thể Kon Tum ( $A = 2,27 > A = 2,05$ ). Tần số alen dị hợp tử quan sát được ( $H_o$ ) của quần thể sâm ở Quảng Nam là 0,49 và ở Kon Tum là 0,43. Tần số dị hợp tử mong đợi ( $H_e$ ) ở hai quần thể này lần lượt là 0,42 và 0,4. Như vậy quần thể sâm Ngọc Linh ở Quảng Nam có tần số dị hợp tử mong đợi ( $H_e$ ) cao hơn tần số dị hợp tử mong đợi của quần thể sâm ở Kon Tum ( $0,42 > 0,4$ ). Tần số alen dị hợp tử quan sát được ( $H_o$ ) của quần thể Quảng Nam cũng cao hơn tần số dị hợp tử mong đợi so với quần thể Kon Tum ( $0,49 > 0,43$ ). Như vậy, có thể kết luận cả hai quần thể Quảng Nam và Kon Tum đều đang

duy trì được tần số dị hợp tử tương đối cao, hiện tượng thụ phấn chưa ảnh hưởng đến cấu trúc di truyền quần thể của cả hai quần thể này, tuy nhiên quần thể sâm tại Quảng Nam thể hiện mức độ đa dạng và tần số dị hợp tử cao hơn so với quần thể sâm tại Kon Tum.

Tuy vậy, các kết quả phân tích thu được cũng cho thấy, mặc dù có sự đa hình khá lớn ở bốn locus nghiên cứu nhưng tần số phân bố của các alen không đồng đều, số lượng alen có tần số xuất hiện có ý nghĩa chỉ ở mức trung bình thấp. Đây có thể là kết quả của quá trình cách ly và chọn lọc không đều đã làm giảm tần số xuất hiện của một số alen hiếm hay không có ưu thế trong tiến hóa, điều này cho



thấy rất có thể quần thể Quảng Nam và Kon Tum thực chất ban đầu có nguồn gốc từ một quần thể chung, sau đó bị phân ly tạo thành hai quần thể riêng biệt nên vẫn tồn tại một số alen hiếm nhưng với tần số rất nhỏ.

Kết quả phân tích chỉ số Fis của hai quần thể sâm Ngọc Linh ở Quảng Nam và Kon Tum ở nghiên cứu này đều cho giá trị hệ số thụ phấn cận noãn (Fis) nhỏ hơn 0 (cụ thể, giá trị Fis của 2 quần thể Quảng Nam và Kon Tum tương ứng -0,12 và -0,09). Kết quả này phản ánh hệ số gen đồng hợp tử ở các quần thể này đều thấp hơn so với tỷ lệ alen dị hợp tử quan sát được, nghĩa là chưa xuất hiện hiện tượng thoái hóa di truyền hay nói cách khác chưa xảy ra sự thụ phấn cận noãn trong quần thể hay nói cách khác việc thụ phấn cận noãn giữa một số cá thể trong quần thể chưa làm ảnh hưởng đến tần số alen dị hợp tử tổng số của quần thể. Quần thể sâm Ngọc Linh ở Quảng Nam có hệ số cận noãn (Fis) nhỏ hơn hệ số cận noãn (Fis) ở quần thể sâm Ngọc Linh ở Kon Tum ( $-0,12 < -0,09$ ), điều đó cho thấy tỷ lệ thụ phấn cận noãn ở các cá thể trong quần thể Quảng Nam thấp hơn so với Kon Tum, kết quả phân tích alen dị hợp và tần số đa dạng alen ở quần thể Quảng Nam cũng cao hơn so với quần thể Kon Tum.

Nhìn chung, các kết quả thu được trong nghiên cứu này đều cho thấy các giá trị Ho, He của hai quần thể sâm Ngọc Linh ở Quảng Nam và Kon Tum đều cao hơn so với các kết quả nghiên cứu về đa dạng di truyền quần thể của loài *Panax quinquefolius* và *Panax ginseng* [Kim, 2007, Galina, 2010, Elena 2018]. Điều đó chứng tỏ loài sâm Ngọc Linh của Việt Nam đang có được một nguồn gen phong phú với tỷ lệ locus đa hình cao.

Kết quả bước đầu này cho thấy, tỷ lệ dị hợp trong 2 quần thể sâm ở Quảng Nam và Kon Tum đủ đảm bảo cho quần thể sâm Ngọc Linh phát triển. Tuy nhiên trong nghiên cứu này, hai quần thể sâm mà chúng tôi thực hiện thu mẫu là hai quần thể sâm thuộc sự quản lý của chính quyền xã Trà Linh, huyện Nam Trà My và công ty Cổ phần Sâm Ngọc Linh tại xã Măng ri, huyện Tư Mờ Rông, ở đây hầu hết đều là những cây được di thực từ tự nhiên, tập trung trồng trong tràm nên hầu như vẫn

giữ được tính đa dạng cao. Trên thực tế, sau thời gian dài trồng tập trung mà không bổ sung được cây mới (nguồn gen mới), khả năng mất đi tính đa dạng của quần thể này là chắc chắn xảy ra.

**Lời cảm ơn:** Nghiên cứu này được hỗ trợ bởi nguồn kinh phí của Viện Hàn lâm KHCNVN cho đề tài thuộc Hướng Đa dạng sinh học và các chất có hoạt tính sinh học mã số VAST04.07/19-20.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Choi I. J., Kim H., Kim N. H., Choi B. S., Ahn I. O., Lee J. S., and Yang T. K., 2011. Development of reproducible EST-derived SSR markers and assessment of genetic diversity in *Panax ginseng* cultivars and related species. *Journal of Ginseng research*, 35: 399–412.
- Do Tat Loi, 2004, Vietnamese medicinal plants and herbs. Medicine Publishing House, pp. 808–810. (In Vietnamese)
- Doyle J. J., Doyle J. L., 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13–15.
- Elena A. V., Iury Yu. A., Reunova G. D., T. P. T. Nguyen, Yuri N. Z., 2018. A comparative Analysis of genetic Variability and differentiation in *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. and *P. ginseng* C.A. Meyer using ISSR markers. *Russian journal of genetics*, 54(2): 262–265.
- Galina D. Reunova, Irina L. Kats, Tamara I. Muzarok, Trang N. T. P, The Dang Tat, Yuri N. Zhuravlev, 2010. Genetic diversity of *Panax ginseng* C. A. Meyer, inferred from amplified fragment length polymorphism markers”.
- Ha T. D. and Grushvitzky I. V., 1985. New species in *Panax* (Araliaceae) in Viet Nam. *J. Botany*, 70: 518–522.
- Keller L. F. and Waller D. M., 2002. Inbreeding effects in wild populations. *Trends in ecology & evolution*, 17(5), 230–241.



- Kim J., Jo B. H., Lee K. L., Yoon E. S., Ryu G. H., Chung K. W., 2007. Identification of new microsatellite markers in *Panax ginseng*. *Molecules and Cell*, 24: 60–68.
- Lahaye R., van der Bank M., Bogarin D., Warner J., Pupulin F., Gigot G., Maurin O., Dathoit S., Barraclough T. G., Savolainen V., 2008. DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. *PNAS*, 105(8): 2923–2928.
- Le Ngoc Trieu, Nong Van Duy, Vu Tien Chinh, Tran van Tien, 2016a. Genetic diversity of *Panax vietnamensis* var. *fucidicus* K. Komatsu, S. Zhu & s.Q.cai population in western north of Vietnam detected by Inter simple sequence repeat markers. *Vietnam Journal of Biotechnology*, 14(4): 619–627 (In Vietnamese with English summary).
- Le Ngoc Trieu, Nguyen Tuong Mien, Tran Van Tien, Nguyen Van Ket, Nong Van Duy 2016b. Genetic diversity of *Panax stipuleanatus* Tsai in North Vietnam detected by inter simple sequence repeat (ISSR) markers. *Biodiversity and Ecosystems*, pp. 506–511.
- Le Thanh Son and Nguyen Tap, 2006. Ecological characteristics of *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. *Journal of Medicinal Materials*, 14(4): 145–147 (In Vietnamese with English summary).
- MOST (Ministry of Science and Technology) and VAST (Vietnam Academy of Science and Technology), 2007. Vietnam red data book, part II. Plants (In Vietnamese)
- Nguyen Tien Ban, 2003. List of Vietnamese Plant species, Agriculture Publishing House, Ha Noi. Part 2, p. 1078–1079. (In Vietnamese).
- Rox Peakall, Peter E. Smouse, 2012. GenAlex 6.5: Genetic analysis in Excel Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 28(19): 2537–2539.